

QUYẾT ĐỊNH

VỀ VIỆC BAN HÀNH TIÊU CHUẨN NGÀNH 04-TCN-33-2001 “HẠT GIỐNG CÂY TRỒNG LÂM
NGHIỆP – PHƯƠNG PHÁP KIỂM NGHIỆM”

BỘ TRƯỞNG BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

*Căn cứ Nghị định số 73/CP ngày 1 tháng 11 năm 1995 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và tổ chức bộ máy của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn;
Theo đề nghị của Vụ trưởng Vụ Khoa học Công nghệ và CLSP, Cục trưởng Cục Phát triển Lâm nghiệp,*

QUYẾT ĐỊNH

Điều 1. Nay ban hành Tiêu chuẩn ngành 04-TCN-33-2001 “Hạt giống cây trồng lâm nghiệp – Phương pháp kiểm nghiệm”.

Điều 2. Tiêu chuẩn “Hạt giống cây trồng lâm nghiệp – Phương pháp kiểm nghiệm” trên được áp dụng cho các đơn vị sản xuất kinh doanh thuộc mọi thành phần kinh tế.

Điều 3. Chánh Văn phòng Bộ, Thủ trưởng các Cục, Vụ, Viện trực thuộc Bộ và Giám đốc các Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn chịu trách nhiệm thi hành quyết định này.

**KT. BỘ TRƯỞNG BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ
PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN
THỦ TRƯỞNG**

Nguyễn Văn Đăng

TIÊU CHUẨN NGÀNH 04 – TCN – 33 – 2001

HẠT GIỐNG CÂY TRỒNG LÂM NGHIỆP - PHƯƠNG PHÁP KIỂM NGHIỆM

1. Những quy định chung

Tiêu chuẩn này quy định các khái niệm, phương pháp lấy mẫu, trình tự và phương pháp kiểm nghiệm, xác định các chỉ tiêu chất lượng sinh lý của hạt giống cây trồng lâm nghiệp, bao gồm: độ thuần, trọng lượng 1.000 hạt, số hạt trong 1 kg, hàm lượng nước, tỷ lệ nảy mầm, thể nảy mầm và tình trạng thể chất (sức khỏe) của hạt.

Tiêu chuẩn này áp dụng cho mọi lô hạt giống được sản xuất, nhập nội và lưu thông trong cả nước, dùng để gieo ươm tạo cây con phục vụ trồng rừng hoặc trồng rừng bằng phương pháp gieo hạt thẳng.

Các phương pháp quy định trong tiêu chuẩn này được áp dụng thống nhất tại các phòng kiểm nghiệm chất lượng sinh lý hạt giống cây trồng lâm nghiệp trên phạm vi cả nước trong quá trình kiểm tra, quản lý giống cây trồng.

1.1. Cơ sở có hạt giống: phải thông báo cho nhân viên lấy mẫu kiểm nghiệm các thông tin về lý lịch, tình trạng lô hạt giống, việc xử lý trong quá trình bảo quản và phải tạo điều kiện thuận lợi cho việc lấy mẫu được dễ dàng, chính xác.

1.2. Nhân viên lấy mẫu: phải trực tiếp kiểm tra lô hạt giống, lấy mẫu điểm, mẫu gốc và mẫu gửi.

1.3. Khi lập xong mẫu kiểm nghiệm cho lô hạt giống: nhân viên lấy mẫu phải niêm phong mẫu, ghi phiếu gửi và chuyển ngay mẫu đến phòng kiểm nghiệm.

1.4. Giao và nhận mẫu: bên giao và nhận mẫu phải lập biên bản lấy mẫu và đảm bảo thực hiện đầy đủ, chính xác những quy định về lấy mẫu trong tiêu chuẩn này (nếu người lấy mẫu không phải là nhân viên của cơ quan kiểm nghiệm có thẩm quyền) trước khi gửi mẫu tới cơ quan kiểm nghiệm.

1.5. Cơ sở có hạt giống: có thể yêu cầu cơ quan kiểm nghiệm hạt giống cấp trên lấy mẫu để kiểm nghiệm lại nếu xét thấy kết quả kiểm nghiệm lô hạt giống đó không thỏa đáng.

1.6. Cấp giấy chứng nhận chất lượng hạt: chỉ có cơ quan được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn giao nhiệm vụ kiểm nghiệm hạt giống (cơ quan kiểm nghiệm có thẩm quyền) mới có quyền công bố chính thức hoặc cấp giấy chứng nhận chất lượng sinh lý cho một lô hạt giống.

1.7. Hủy bỏ hạt giống: những lô hạt giống bị kết luận là không đạt yêu cầu chất lượng để làm giống trồng rừng phải hủy bỏ. Việc tiến hành hủy bỏ này phải được tổ chức dưới sự giám sát của cơ quan kiểm nghiệm hạt giống hoặc Chi cục phát triển lâm nghiệp địa phương và các cơ quan có liên quan.

2. Các thuật ngữ

2.1. Lô hạt (seed lot)

Lô hạt là một khối lượng hạt giống cùng loài, đồng nhất về mọi phương diện, được thu hái cùng một thời gian từ những cây mẹ có cùng xuất xứ và cùng một nguồn giống, sinh trưởng trong cùng một điều kiện lập địa, được chế biến đồng thời theo cùng một phương pháp và được bảo quản trong cùng một điều kiện.

Khối lượng tối đa của một lô hạt giống được quy định theo từng loài cây cụ thể

2.2. Mẫu kiểm nghiệm (seed testing sample)

Mẫu kiểm nghiệm là một lượng hạt giống nhỏ, đại diện cho toàn thể lô hạt.

2.2.1. Mẫu điểm (mẫu nguyên thủy: primary sample): là một lượng nhỏ hạt giống được lấy ngẫu nhiên từ một vị trí của lô hạt. Khối lượng của các mẫu điểm xấp xỉ nhau và khi hợp lại đủ để hình thành một mẫu gốc (mẫu hợp).

2.2.2. Mẫu gốc (mẫu hợp: composite sample): mẫu gốc là lượng hạt giống do các mẫu điểm hợp lại và trộn đều.

2.2.3. Mẫu gửi (submitted sample): mẫu gửi là một phần của mẫu gốc (hoặc toàn bộ mẫu gốc) được chia theo một phương pháp thích hợp (quy định tại mục 3.7.2 của tiêu chuẩn này) được chuyển đến phòng kiểm nghiệm để phân tích các chỉ tiêu chất lượng của lô hạt.

2.2.4. Mẫu phân tích (mẫu thử: working sample):

Mẫu phân tích là một phần của mẫu gửi dùng để xác định một chỉ tiêu chất lượng của lô hạt. Tổng trọng lượng của các mẫu phân tích bằng 1/2 trọng lượng của mẫu gửi.

2.2.5. Mẫu lưu (preserved sample):

Mẫu lưu là một nửa của mẫu gửi, được bảo quản trong điều kiện tốt nhất, dùng để kiểm nghiệm lại một số chỉ tiêu chất lượng khi cần thiết. Mẫu này được bảo quản tại phòng kiểm nghiệm trong một năm (đối với hạt ưa khô) hoặc trong kỳ hạn có thể lưu giữ tối đa (tùy theo từng loại hạt ưa ẩm có đặc điểm sinh lý khác nhau) kể từ ngày nhận mẫu.

2.3. Niêm phong (sealed)

Niêm phong nghĩa là bao hoặc đóng kín các dụng cụ chứa hạt giống bằng cách nào đó, không thể mở ra để tiếp xúc với hạt rồi gắn lại mà dấu niêm phong không bị phá hủy hoặc không để lại dấu vết trên bao hạt.

Khái niệm này có liên quan đến việc niêm phong các lô hạt và các mẫu hạt giống gửi đi kiểm nghiệm.

2.4. Độ thuần (độ sạch: purity)

Độ thuần là tỷ lệ phần trăm giữa trọng lượng hạt thuần (hạt sạch) chứa trong mẫu kiểm nghiệm và tổng trọng lượng các thành phần của mẫu kiểm nghiệm.

Trong quá trình phân tích độ thuần, mẫu hạt được phân ra thành 3 thành phần: hạt thuần, tạp chất và hạt khác.

2.4.1. Hạt thuần (hạt sạch = pure seed): là hạt của chính lô hạt được kiểm nghiệm, gồm:

- Hạt đã chín, còn nguyên vẹn.
- Hạt nhỏ, vỏ nhăn nheo, hạt chưa chín.
- Hạt đã mọc mầm trước lúc kiểm nghiệm.
- Hạt bị vỡ, có kích thước phần còn lại lớn hơn 1/2 kích thước hạt ban đầu.
- Hạt có vết bệnh.

2.4.2. Tạp chất (inert matter): phần tạp chất bao gồm các thành phần sau:

- Các tàn dư vô cơ: đất, đá, sỏi, cát ...
- Hạt bị tróc toàn bộ phần vỏ hạt.
- Mảnh vỡ của hạt có kích thước nhỏ hơn 1/2 kích thước ban đầu của hạt
- Cánh hạt, mảnh lá, mảnh vụn vỏ cây, vỏ quả, cành con, bào tử nấm, trứng sâu, hạt thối ...

2.4.3. Hạt khác (other seeds): hạt các loài cây khác.

2.5. Trọng lượng 1.000 hạt (1,000 grain weight, weight of 1,000 seeds)

Là trọng lượng tính bằng gam của 1.000 hạt thuần.

2.6. Số hạt/1kg (number of seeds/kg)

Là tổng số hạt thuần có trong trọng lượng 1kg (bao gồm cả phần trọng lượng của hạt thuần và trọng lượng tạp chất).

2.7. Sự nảy mầm (germination)

Sự nảy mầm của một hạt giống trong phòng kiểm nghiệm là sự mọc lên và phát triển của cây mầm đến một giai đoạn mà ở đó các bộ phận chủ yếu của nó được hình thành, có thể hoặc không thể phát triển tiếp thành cây con tốt trong các điều kiện thuận lợi trên hiện trường.

2.8. Các bộ phận chủ yếu của cây mầm (the essential seedling structures):

Các bộ phận chủ yếu, cần thiết cho cây mầm để có thể phát triển thành cây con tốt sau này gồm:

- Hệ thống rễ (rễ sơ cấp).
- Thân mầm.
- Lá mầm.
- Chồi đỉnh.

2.9. Tỷ lệ nảy mầm (germination percentage = germination capacity)

Là tỷ lệ phần trăm giữa số hạt nảy mầm (cho cây mầm bình thường) so với tổng số hạt kiểm nghiệm.

2.10. Thế nảy mầm (germination energy)

Là tỷ lệ phần trăm giữa số hạt nảy mầm (cho cây mầm bình thường) trong 1/3 thời gian đầu của kỳ hạn nảy mầm so với tổng số hạt kiểm nghiệm.

2.11. Cây mầm bình thường (normal seedling)

Là cây mầm phát triển đầy đủ các bộ phận và đạt được các yêu cầu sau:

- a. Thân mầm nguyên vẹn, màu sắc bình thường.
- b. Rễ mầm phát triển tốt, có chiều dài bằng 2 lần chiều dài của hạt.
- c. Những cây mầm bị nhiễm bệnh sau khi nảy mầm nhưng có đầy đủ các bộ phận như quy định tại 2 điểm a, b trên.

2.12. Cây mầm không bình thường (abnormal seedling)

Là những cây mầm có một trong các khuyết tật sau:

- a. Không có một trong các bộ phận quy định tại các điểm 2.11.a, 2.11.b.
- b. Rễ mầm bị thối một phần hay hoàn toàn.
- c. Thân mầm bị dị hình, có màu sắc không bình thường.
- d. Bị nhiễm sâu bệnh trước khi nảy mầm.
- e. Lá mầm bị thâm đen.

2.13. Hạt không nảy mầm (ungerminated seed)

Những hạt không nảy mầm khi giai đoạn kiểm nghiệm nảy mầm kết thúc, bao gồm:

- a. Hạt cứng (hard seed): Hạt vẫn cứng sau khi kiểm nghiệm kết thúc do không hút nước.
- b. Hạt tươi (fresh seed): Hạt chắc, nguyên vẹn, không nảy mầm nhưng vẫn duy trì được khả năng nảy mầm để phát triển thành cây mầm bình thường.
- c. Hạt chết (dead seed): Hạt không có các đặc trưng của hai loại trên và không xuất hiện bất cứ bộ phận nào của cây mầm.
- d. Hạt rỗng (empty seed): Hạt không có phôi và nội nhũ mà chỉ có phần vỏ hạt.

2.14. Hạt có khả năng nảy mầm (viable seed)

Những hạt có thể nảy mầm trong các điều kiện thuận lợi (kể cả việc xử lý khi hạt đang trong tình trạng ngủ sâu). Chỉ tiêu áp dụng: số hạt có thể nảy mầm trong 10 gam hạt.

2.15. Sự ngủ (dormancy)

Tình trạng sinh lý của hạt giống có khả năng nảy mầm nhưng không nảy mầm được mặc dù hạt được trong điều kiện nảy mầm tối ưu.

2.16. Xử lý (pre-treatment)

Sự tác động bằng các tác nhân bên ngoài vào hạt (vật lý, hóa học) nhằm phá vỡ quá trình ngủ, thúc đẩy hạt nảy mầm nhanh, mạnh và đều.

2.17. Hạt ưa khô (orthodox seed)

Hạt có thể bảo quản lâu dài ở nhiệt độ thấp (<0°C), với hàm lượng nước của hạt thấp, khoảng 5%.

2.18. Hạt ưa ẩm (recalcitrant seed)

Hạt cần bảo quản ẩm, chỉ duy trì được khả năng nảy mầm trong thời hạn ngắn với hàm lượng nước cao (25-45%) và không chịu được nhiệt độ quá thấp (đối với các loài cây nhiệt đới, nhiệt độ trong môi trường bảo quản không dưới 20°C)

2.19. Hạt trung tính (intermediate seed)

Hạt có thể bảo quản được trong một thời gian dài với hàm lượng nước $\geq 12\%$ (tương đương như một số loại hạt ưa khô) và không chịu được nhiệt độ quá thấp.

2.20. Hàm lượng nước (độ ẩm hạt: moisture content)

Hàm lượng nước của hạt là tỷ lệ phần trăm giữa lượng nước chứa trong hạt và trọng lượng tươi của hạt (trọng lượng của hạt khi chưa sấy khô).

2.21. Thể chất (sức khỏe) của hạt giống (seed health)

Tình trạng thể chất của hạt được đánh giá chủ yếu dựa trên mức độ xuất hiện của các tổ chức gây bệnh có trong lô hạt như: nấm, vi khuẩn, virus, sâu, nhộng, trứng giun ... cũng như bệnh sinh lý (sự thiếu hụt các nguyên tố vi lượng) gây ra

2.22. Lặp lại (replicate)

Là việc bố trí những thí nghiệm giống nhau để đánh giá một chỉ tiêu chất lượng sinh lý của hạt (trọng lượng 1.000 hạt, tỷ lệ nảy mầm ...) theo cùng một phương pháp, khối lượng, trong cùng một thời gian và cùng một điều kiện thí nghiệm nhằm loại bỏ các sai số do tác động ngẫu nhiên để thu được trị số trung bình của chỉ tiêu kiểm nghiệm.

3. Lấy mẫu kiểm nghiệm

3.1. Nguyên tắc

Mẫu kiểm nghiệm phải đại diện cho toàn bộ lô hạt. Mẫu hạt được lấy ra từ một lô hạt tại các vị trí khác nhau, phân bố đều trong toàn bộ lô hạt theo phương pháp rút mẫu ngẫu nhiên. Từ mẫu gốc này, các mẫu nhỏ hơn được hình thành qua một hoặc nhiều giai đoạn chia mẫu, ở mỗi giai đoạn, hạt được trộn đều, phân chia và lập mẫu hoàn toàn ngẫu nhiên.

3.2. Những quy định chung

- Nhân viên lấy mẫu phải là người được đào tạo và có kinh nghiệm trong chuyên ngành kiểm nghiệm hạt giống, được trưởng phòng kiểm nghiệm (phòng kiểm nghiệm có thẩm quyền) cử đến hoặc phòng kiểm nghiệm ủy quyền cho cơ sở thực hiện.

- Lô hạt giống phải được sắp xếp sao cho các dụng cụ đựng hạt ở vị trí thích hợp để có thể lấy mẫu hạt tại bất kỳ điểm nào trong lô.

- Chủ lô hạt phải tạo điều kiện thuận lợi để việc lấy mẫu được nhanh chóng, cung cấp đầy đủ hồ sơ, thông tin chính xác có liên quan đến lô hạt cho nhân viên lấy mẫu. Nếu hạt giống đã được xử lý bằng hóa chất thì chủ lô hạt phải thông báo cho phòng kiểm nghiệm biết loại hóa chất và phương pháp xử lý đã sử dụng.

- Khi có những dấu hiệu rõ ràng về sự sai khác, không đồng nhất trong lô hạt (qua so sánh chất lượng các mẫu điểm bằng cảm quan) thì phải xem xét kỹ và phải chia lô hạt thành hai hay nhiều lô nhỏ và lấy mẫu riêng cho từng lô nhỏ đó.

3.3. Lấy mẫu điểm

3.3.1. Lấy mẫu điểm cho những lô hạt đựng trong bao có trọng lượng 50-100 kg

Số bao hạt	Số mẫu điểm tối thiểu
1 đến 4	3 mẫu điểm/1 bao
5 đến 8	2 mẫu điểm/1 bao
9 đến 15	1 mẫu điểm/1 bao
16 đến 30	Tổng số 15 mẫu điểm
31 đến 59	Tổng số 20 mẫu điểm
≥ 60	Tổng số 30 mẫu điểm

Ở những bao được lấy mẫu, phải lấy luân phiên tại các vị trí: trên, giữa, dưới bao.

3.3.2. Lấy mẫu điểm cho những lô hạt đựng trong bao có trọng lượng trên 100kg hoặc cho những lô hạt đang được đóng vào bao hay vun thành đồng:

Trọng lượng lô hạt	Số mẫu điểm tối thiểu
≤ 500 kg	Ít nhất 5 mẫu điểm
501 – 3.000 kg	1 mẫu điểm cho 300 kg, nhưng không ít hơn 5
3.001 – 20.000 kg	1 mẫu điểm cho 500 kg, nhưng không ít hơn 10
≥ 20.000 kg	1 mẫu điểm cho 700 kg, nhưng không ít hơn 40

3.3.3. Lấy mẫu hạt chứa trong các dụng cụ nhỏ (hộp kim loại, bao polyethylene, túi vải ...): trọng lượng 50 kg hạt (tổng trọng lượng của nhiều bao nhỏ cộng lại, ví dụ: 10 bao 5 kg, 25 bao 2 kg, 50 bao 1kg) được coi như *một đơn vị* bao thông thường để lấy mẫu điểm. Số đơn vị được chọn để lấy mẫu điểm giống như đối với lô hạt đựng trong các bao lớn.

3.3.4. Dụng cụ và phương pháp lấy mẫu điểm

3.3.4.1. Dụng cụ: Dùng ống lấy mẫu hình thụt: dụng cụ này gồm 2 ống kim loại lồng vào nhau, có thể xoay tròn một cách dễ dàng, ở thành mỗi ống có những khe hở, khi vận xoay các ống thì các khe hở của ống trong và ống ngoài trùng nhau và hạt có thể lọt vào ống trong. Sau đó lại xoay ngược trở lại một nửa vòng thì các khe được đóng kín, giữ hạt lại bên trong. Chiều dài và đường kính của ống thay đổi tùy thuộc vào kích thước dụng cụ chứa hạt. Khi lấy mẫu, cắm đầu nhọn của ống vào trong bao hạt (tại vị trí thích hợp được chọn với ống đóng kín), sau đó xoay một vòng cho các khe mở ra, hạt rơi vào bên trong. Quay nhẹ nửa vòng cho các khe đóng lại và rút ống ra khỏi vị trí lấy mẫu. Đảo hạt (mẫu điểm) ra và lại tiếp tục thao tác như vậy để lấy mẫu ở vị trí khác.

Lấy mẫu cho các lô hạt được vun thành đồng: dùng các loại muỗng hoặc cốc bằng kim loại, múc hạt tại các vị trí thích hợp, rồi đổ vào dụng cụ chứa mẫu.

Trong trường hợp hạt chứa trong các dụng cụ có chiều cao của hạt dưới 40 cm thì có thể dùng tay để lấy mẫu, bằng cách thọc lòng bàn tay vào và lấy ra từng phần nhỏ. Lòng bàn tay và các ngón tay phải trên cùng một mặt phẳng, sau đó nắm tay lại, các ngón tay vẫn khép kín các kẽ, và rút tay ra. Khi áp dụng phương pháp này, bàn tay phải thật khô để tránh ẩm độ cao từ bàn tay người lấy mẫu ảnh hưởng đến ẩm độ của hạt.

3.3.4.2. Phương pháp lấy mẫu điểm: Các mẫu điểm có trọng lượng xấp xỉ nhau, được lấy từ mỗi bao hoặc tại một vị trí trong một bao hay từ một điểm trên đồng hạt. Tùy theo điều kiện hạt được đựng trong các loại bao chứa khác nhau, có các phương pháp lấy mẫu như sau:

- Hạt đựng trong bao: Các bao được chọn để lấy mẫu theo phương pháp ngẫu nhiên trong toàn bộ lô hạt, ở những bao được lấy mẫu điểm, phải lấy luân phiên tại các vị trí: trên, giữa, dưới bao, mỗi bao chỉ lấy mẫu ở một điểm duy nhất trừ khi phải lấy trên 2 mẫu điểm trong 1 bao.

- Hạt để thành đồng hay đựng trong các bao to: Mẫu điểm được lấy từ các vị trí và ở độ sâu khác nhau một cách ngẫu nhiên.

Trường hợp hạt đựng trong các dụng cụ được gắn kín, nếu có thể, nên lấy mẫu trước khi đưa hạt vào bao. Nếu lấy mẫu cho những lô hạt đựng trong bao gắn kín thì phải mở bao hoặc làm thủng bao ở những vị trí cần thiết. Sau khi lấy mẫu phải gắn kín bao như cũ hoặc thay bao mới.

Khi lấy mẫu cho những lô hạt đang đóng vào bao, phải đặt dụng cụ lấy mẫu trong dòng chảy của hạt sao cho lấy được mẫu đại diện cho toàn bộ lô hạt.

3.4. Lập mẫu gốc

Đổ các mẫu điểm đã thu được trên một mặt phẳng (tấm kính rộng, tấm mica dày hoặc tấm gỗ khô, nhẵn ...), trộn đều các mẫu với nhau nhiều lần, được mẫu gốc. Từ mẫu gốc này, lấy ra mẫu gửi (bao gồm các mẫu phân tích và mẫu lưu).

3.5. Lập mẫu gửi

Trải mẫu gốc trên một mặt phẳng, trộn đều. Nếu trọng lượng mẫu gốc bằng trọng lượng của mẫu gửi thì đóng gói toàn bộ lượng hạt đó để gửi đi. Nếu trọng lượng mẫu gốc lớn hơn trọng lượng của mẫu gửi yêu cầu thì phải tiến hành chia mẫu gốc để lấy mẫu gửi thích hợp. Phương pháp chia được quy định tại mục 3.7.2.

Trọng lượng mẫu gửi tối thiểu (quy định theo từng loại hạt cụ thể): bao gồm trọng lượng dùng cho các mẫu phân tích (1/2) và trọng lượng mẫu lưu (1/2).

Sau khi lập xong mẫu gửi phải đóng gói, niêm phong và lập phiếu gửi mẫu kiểm nghiệm, bao gồm:

- Đóng gói: mẫu hạt ưa khô được đựng trong bao PE 2 lần không thấm nước (đặc biệt là mẫu dùng để kiểm nghiệm hàm lượng nước của hạt), rồi gắn kín lại. Mẫu hạt ưa ẩm và hạt trung tính được

đựng trong các bao, túi hoặc hộp để hở hay có nhiều lỗ thoáng khí cho hạt hô hấp, cung cấp đủ độ ẩm cần thiết, tránh để mẫu hạt phơi ra ánh nắng và nhiệt độ cao.

- Bên trong và bên ngoài bao bì đều có nhãn ghi:

+ Tên hạt giống

+ Số hiệu lô hạt

+ Trọng lượng mẫu.

+ Ngày lấy mẫu

+ Ngày gửi mẫu

Phiếu gửi mẫu kiểm nghiệm (phụ lục 1).

3.6. Gửi mẫu

Mẫu gửi được nhân viên lấy mẫu của phòng kiểm nghiệm có thẩm quyền (hoặc nhân viên lấy mẫu của cơ sở được ủy quyền) chuyển ngay về phòng kiểm nghiệm càng sớm càng tốt mà không chuyển qua chủ lô hạt, hoặc các tổ chức, cá nhân không liên quan.

3.7. Các thủ tục tại phòng kiểm nghiệm

3.7.1. Nhận mẫu:

- Khi mẫu hạt được chuyển đến phòng kiểm nghiệm thì người nhận mẫu phải lập biên bản giao nhận, ghi vào sổ nhận mẫu, viết phiếu nhận mẫu và hẹn trả kết quả cho khách hàng. Phòng kiểm nghiệm chỉ nhận mẫu khi bao, túi đựng mẫu, dấu niêm phong mẫu vẫn còn nguyên vẹn kèm theo phiếu gửi mẫu được lập đúng quy định (phụ lục 1).

- Phải giữ bí mật các thông tin của mẫu, mã hóa mẫu trước khi giao cho nhân viên kiểm nghiệm để đảm bảo tính khách quan trong quá trình phân tích mẫu.

Sau khi nhận mẫu, phải tiến hành kiểm nghiệm các chỉ tiêu cần thiết ngay. Nếu không kịp, mẫu phải được bảo quản cẩn thận để không làm ảnh hưởng đến chất lượng của mẫu hạt.

3.7.2. Chia mẫu: trước tiên, mẫu được trộn đều và chia làm 2 phần bằng nhau. Một phần được dùng để phân tích các chỉ tiêu cần thiết, còn phần kia được bảo quản trong các dụng cụ và phương pháp thích hợp nhằm duy trì chất lượng cao nhất để làm mẫu lưu.

Phần hạt dùng để phân tích các chỉ tiêu chất lượng sinh lý của lô hạt được chia thành các mẫu phân tích cho từng chỉ tiêu với các phương pháp chia mẫu sau đây:

3.7.2.1. Nguyên tắc:

- Các mẫu được chia ra phải đại diện đầy đủ tính chất của mẫu gốc và vì vậy đại diện đầy đủ các tính chất của lô hạt.

- Trong quá trình chia ra các mẫu phân tích, tùy theo yêu cầu của từng chỉ tiêu, mẫu phân tích có trọng lượng tương đương hoặc lớn hơn trọng lượng yêu cầu.

3.7.2.2. Các phương pháp chia mẫu bằng máy chia:

- Máy chia mẫu Boerner: Những bộ phận chính của máy gồm một phễu ngược và một số van đổi hướng, lái hạt về hai cửa. Những van đổi hướng làm thành những mạch và những khoảng cách giữa các mạch rộng bằng nhau, chạy theo hình vòng tròn hướng vào phía trong và xuống phía dưới, những mạch được dẫn tới một cửa, còn những khoảng cách giữa các mạch được dẫn tới cửa đối diện. Một van ở đáy phễu điều chỉnh dòng chảy của hạt. Khi van đóng lại thì hạt rơi ở phía trên phễu được phân bố đều trên những mạch và những khoảng giữa chúng, sau đó hạt đi ra qua các cửa và rơi vào các thùng hứng phía dưới.

- Máy chia Gamet: dùng lực ly tâm để trộn và dàn đều hạt trên mặt phẳng chia. Từ một phễu ở phía trên, hạt được đổ xuống một chậu nông bằng cao su làm cho các hạt bắn ra do lực ly tâm và rơi xuống. Bề mặt rơi của hạt (có hình tròn) được chia đôi bởi một vách ngăn sắc cạnh, do đó mỗi nửa vòng tròn hứng được một nửa số hạt đổ vào máy.

3.7.2.3. Các phương pháp chia mẫu thủ công:

- Phương pháp đối góc: mẫu được trộn và trải đều trên mặt phẳng (bằng kính hoặc mica) thành hình vuông. Dùng thước phân hạt thành 4 phần bằng nhau theo đường chéo góc. Lấy toàn bộ số hạt ở 2 phần đối nhau, trộn đều. Cứ làm lặp lại như trên cho đến khi mẫu còn lại gần bằng mẫu tiêu chuẩn quy định.

- Phương pháp chọn điểm: trải đều hạt trên một tấm kính theo hình vuông, hình tròn hay hình chữ nhật. Dùng thìa nhỏ xúc hạt từ các điểm phân bố đều trên toàn bộ diện tích, sao cho đủ trọng lượng cần thiết.

- Phương pháp chén ngẫu nhiên: đặt mấy hàng chén nhỏ theo một kiểu xác định nào đó trên một chiếc khay rồi đổ đều hạt xuống khay từ phía trên. Lấy ngẫu nhiên một số chén hạt để làm mẫu kiểm nghiệm.

- Phương pháp dùng bảng chia mẫu: bảng có các ngăn vuông cùng kích thước, một nửa số ngăn có đáy và một nửa số ngăn không đáy xen kẽ nhau. Đặt bảng chia mẫu lên một mặt phẳng (bảng kính, mica) có lót giấy. Đổ từ từ và đều đặn mẫu hạt đã trộn kỹ lên khắp bề mặt của bảng 2-3 lượt. Thu và cân phần hạt trong các ngăn có đáy. Phần hạt trên mặt giấy được trộn đều và tiếp tục chia cho đến khi đủ lượng hạt cần thiết.

4. Phân tích độ thuần (độ sạch)

4.1. Nguyên tắc chung

Mẫu phân tích độ thuần được phân chia thành 3 thành phần: hạt thuần, tạp chất và các loại hạt khác. Tất cả các loại hạt khác loài và tạp chất riêng rẽ sẽ được xác định và được tính bằng tỷ lệ phần trăm theo trọng lượng và được trình bày trong báo cáo khi cần thiết.

4.2. Dụng cụ

- Cân điện tử có độ chính xác đến 0,01g.
- Kính lúp có độ phóng đại 6 – 15 lần + bộ đèn phản chiếu.
- Kính hiển vi.
- Một tấm kính dày, trong suốt.
- Bộ sàng phân loại hạt và tạp chất.
- Dao, panh, thước kim loại.
- Một số khay, hộp petri.

4.3. Phương pháp tiến hành

4.3.1. Mẫu phân tích:

Mẫu phân tích độ thuần được lấy ra từ mẫu gửi, theo các thủ tục và phương pháp quy định tại mục 3.7, trong tiêu chuẩn này. Trọng lượng tối thiểu của mẫu phân tích độ thuần như sau:

- Có ít nhất 2.500 hạt, hoặc:
- Trọng lượng không nhỏ hơn ... g (tùy theo từng loại hạt cụ thể, sao cho trong mẫu có chứa khoảng 2.500 hạt).

Có thể sử dụng toàn bộ mẫu phân tích để xác định độ thuần, hoặc chia đôi mẫu này thành 2 tổ (2 lần lặp) đều nhau để phân tích song song. Mẫu phân tích được cân theo đơn vị gam với độ chính xác tới 0,01g.

4.3.2. Phân tích các thành phần:

- Sau khi cân trọng lượng, tiến hành phân chia các thành phần chứa trong mẫu
- Việc xác định hạt thuần dựa trên những biểu hiện có thể quan sát được bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi. Trong quá trình phân lập các thành phần có trong mẫu hạt phải thao tác nhẹ nhàng, tránh làm tổn thương đến cấu trúc của hạt, ảnh hưởng đến khả năng nảy mầm của hạt.

Sau khi được phân định, các thành phần được cân lại (theo đơn vị gam) với độ chính xác tới 0,01g.

4.4. Tính toán và đánh giá kết quả

4.4.1. Trường hợp sử dụng toàn bộ mẫu phân tích:

4.4.1.1. Kiểm tra trọng lượng sau khi phân tích: Cộng tất cả trọng lượng của các thành phần chứa trong mẫu và so sánh với trọng lượng ban đầu. Nếu có sự chênh lệch dưới 5% thì kết quả được chấp nhận. Nếu sự chênh lệch vượt quá 5% thì phải tiến hành phân tích lại mẫu khác.

4.4.1.2. Tính toán tỷ lệ phần trăm cho các thành phần:

Tỷ lệ phần trăm trọng lượng của các thành phần được tính chính xác đến một chữ số lẻ thập phân.

Tính tỷ lệ phần trăm phải dựa trên tổng trọng lượng của các thành phần cộng lại sau khi cân chứ không so sánh với trọng lượng ban đầu của mẫu phân tích. Sai khác giữa tổng trọng lượng của các thành phần cộng lại sau khi cân so với trọng lượng ban đầu của mẫu phải nhỏ hơn 5%. Nếu vượt quá giới hạn này thì phải tiến hành phân tích lại. Tỷ lệ phần trăm của các thành phần khác ngoài hạt thuần sẽ được tính và ghi trong phiếu kết quả kiểm nghiệm khi có yêu cầu.

Độ thuần được tính theo công thức sau đây:

$$\text{Độ thuần (\%)} = \frac{\text{Trọng lượng hạt thuần (g)}}{\text{Tổng TL các thành phần của mẫu KN (g)}} \times 100$$

4.4.1.3. Quy tắc làm tròn số: Cộng tất cả các thành phần của mẫu lại theo tỷ lệ phần trăm trọng lượng. Tổng này phải là 100,0%. Nếu tổng nhỏ hoặc lớn hơn 100,0% (99,9 hay 100,1%) thì cộng hoặc trừ 0,1% vào phần có trị số lớn nhất (thường là phần hạt thuần). Nếu sự chênh lệch vượt quá 0,1% thì phải kiểm tra lại những sai sót trong tính toán.

4.4.2. Trường hợp sử dụng phương pháp 2 lần lặp:

4.4.2.1. Kiểm tra trọng lượng sau khi phân tích: Cộng tất cả trọng lượng của các thành phần chứa trong mỗi tổ và so sánh với trọng lượng ban đầu của từng tổ. Nếu giữa 2 tổ có sự chênh lệch dưới 5% thì kết quả được chấp nhận; nếu sự chênh lệch vượt quá 5% thì phải tiến hành phân tích lại mẫu khác.

4.4.2.2. Tính toán tỷ lệ phần trăm cho các thành phần: theo từng tổ riêng biệt rồi lấy trị số bình quân cộng của 2 tổ.

4.4.2.3. Quy tắc làm tròn số: Cộng tất cả các thành phần của mẫu lại theo tỷ lệ phần trăm trọng lượng. Tổng này phải là 100,0%. Nếu tổng nhỏ hoặc lớn hơn 100,0% (99,9 hay 100,1%) thì cộng hoặc trừ 0,1% vào phần có trị số lớn nhất (thường là phần hạt thuần). Nếu sự chênh lệch vượt quá 0,1% thì phải kiểm tra lại những sai sót trong tính toán. Việc tính toán này được thực hiện riêng cho từng tổ.

Quá trình phân tích, kết quả kiểm nghiệm được ghi vào phiếu theo dõi kiểm nghiệm độ thuần (phụ lục 2).

5. Xác định trọng lượng 1.000 hạt

5.1. Nguyên tắc

5.1.1. Mẫu hạt để xác định trọng lượng 1.000 hạt được lấy ra từ phần hạt thuần đã loại bỏ tạp chất.

5.1.2. Trọng lượng 1.000 hạt được quy về trọng lượng 1.000 hạt ở hàm lượng nước tiêu chuẩn (theo từng loại hạt).

5.2. Dụng cụ

- Cân điện tử có độ chính xác đến 0,01g.
- Máy đếm hạt hoặc bảng đếm hạt (hay tấm kính dày).
- Panh, dao, thước kim loại.
- Hộp petri

5.3. Mẫu phân tích

Mẫu để xác định trọng lượng 1.000 hạt được chuẩn bị bằng cách trộn đều phần hạt thuần và từ đó lấy ngẫu nhiên 800 hạt, 1.000 hạt hoặc, có thể sử dụng toàn bộ số hạt thuần đó.

5.4. Các phương pháp tiến hành

5.4.1. Trường hợp sử dụng toàn bộ số hạt thuần: Đưa toàn bộ mẫu phân tích vào trong máy đếm hạt, đọc số lượng hạt trên màn hình. Sau khi đếm hạt, cân trọng lượng mẫu hạt tính bằng gam với độ chính xác đến 0,01g.

5.4.2. Trường hợp sử dụng phương pháp kiểm nghiệm lặp lại: Từ mẫu phân tích, lấy ra 800 hạt thuần theo phương pháp ngẫu nhiên, chia số hạt này thành 8 tổ, mỗi tổ 100 hạt (8 lần lặp). Cân trọng lượng của từng tổ (tính bằng gam) với độ chính xác đến 0,01g.

Công thức tính toán các trị số: Trị số trung bình, độ biến động, sai tiêu chuẩn, và hệ số biến động theo các công thức sau:

$$\text{Trị số trung bình: } m \text{ (g)} = \bar{m} \text{ (g)} = \frac{m_1 + m_2 + m_3 + \dots + m_8}{8} \text{ (g)}$$

Trong đó:

+ $\bar{m}$ = trọng lượng trung bình tính bằng gam của 100 hạt thuần.

+ $m_1, m_2 \dots m_8$ = trọng lượng tính bằng gam của các lần lặp.

- Độ biến động:

$$\frac{n(\sum m_i^2) - (\sum m_i)^2}{n(n-1)}$$

Trong đó:

+ m_i = trọng lượng của mỗi lần lặp, tính bằng gam.

+ n = số lần lặp.

+ Σ = tổng số.

- Sai tiêu chuẩn:

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum m_i^2) - (\sum m_i)^2}{n(n-1)}}$$

Hệ số biến động: Hệ số biến động (%) = $\frac{S}{\bar{m}} \times 100$ trong đó:

+ S = sai tiêu chuẩn.

+ $\bar{m}$ = trọng lượng trung bình của 100 hạt.

Hệ số biến động tiêu chuẩn là 4,0%. Nếu hệ số biến động vượt quá chỉ số này thì phải đếm thêm 800 hạt, chia làm 8 lần lặp, cân trọng lượng từng tổ, tính sai tiêu chuẩn cho 16 tổ. Loại bỏ bất cứ tổ nào nếu có sự sai khác lớn hơn 2 lần trị số sai tiêu chuẩn đã tính.

5.4.3. Tính toán kết quả:

5.4.3.1. Trường hợp sử dụng toàn bộ số hạt thuần:

Tính trọng lượng 1.000 hạt theo công thức:

$$m = \frac{M \times 1.000}{n}$$

Trong đó:

+ m: Trọng lượng 1.000 hạt (gam).

+ n: Tổng số hạt kiểm nghiệm.

+ M: Tổng trọng lượng của n, hạt kiểm nghiệm (gam)

5.4.3.2. Trường hợp sử dụng phương pháp kiểm nghiệm lặp lại:

Tính trọng lượng trung bình cộng của 100 hạt (g) theo công thức tại mục 5.4.2.

Trọng lượng 1.000 hạt = $\bar{m}$ (g) x 10.

Trong đó: $\bar{m}$ là trọng lượng trung bình tính bằng gam của mẫu 100 hạt thuần.

Quá trình phân tích, kết quả tính toán được ghi vào phiếu theo dõi kiểm nghiệm (phụ lục 2).

5.4.4. Công thức quy trọng lượng 1.000 hạt ở độ ẩm thực tế sang trọng lượng 1.000 hạt ở độ ẩm tiêu chuẩn như sau:

$$M_{tc} = \frac{M_{tt}(100 - W_{tt})}{100 - W_{tc}}$$

Trong đó:

+ M_{tc} = trọng lượng 1.000 hạt ở độ ẩm tiêu chuẩn (g).

+ M_{tt} = trọng lượng 1.000 hạt ở độ ẩm thực tế (g).

+ W_{tt} = độ ẩm thực tế của hạt (%).

+ W_{tc} = độ ẩm tiêu chuẩn của hạt (%).

6. Tính số hạt / 1 đơn vị trọng lượng

6.1. Từ trọng lượng 1.000 hạt, tính ra số hạt / 1g hoặc số hạt / 1kg

$$\text{- Số hạt / 1g} = \frac{1.000}{\text{Trọng lượng (g) của 1.000 hạt}}$$

$$\text{- Số hạt / 1kg} = \frac{1.000 \times 1.000}{\text{Trọng lượng (g) của 1.000 hạt}}$$

6.2. Nếu mẫu cân không phải là 1.000 hạt thì công thức tương ứng là

$$\text{- Số hạt / 1g} = \frac{\text{Số hạt của mẫu}}{\text{Trọng lượng (g) của mẫu}}$$

$$\text{- Số hạt / 1kg} = \frac{\text{Số hạt của mẫu} \times 1.000}{\text{Trọng lượng (g) của mẫu}}$$

7. Kiểm nghiệm tỷ lệ nảy mầm và thể nảy mầm

7.1. Nguyên tắc

- Xác định tỷ lệ nảy mầm và thể nảy mầm trên các mẫu lấy từ phần hạt được tính là hạt thuần.
- Xác định tỷ lệ nảy mầm và thể nảy mầm trong điều kiện môi trường ẩm độ, nhiệt độ, không khí, ánh sáng thích hợp nhất cho sự nảy mầm và phát triển của cây mầm.
- Xác định tỷ lệ nảy mầm và thể nảy mầm trong điều kiện vô trùng.
- Xác định tỷ lệ nảy mầm và thể nảy mầm dựa trên số hạt mọc thành cây mầm bình thường và tổng số hạt kiểm nghiệm
- Trước khi đặt hạt trên giá thể, phải tiến hành xử lý hạt (đối với các loại hạt ngủ)

7.2. Môi trường nảy mầm

7.2.1. Giá thể:

- Giấy lọc: Giá thể cho hạt giống nảy mầm trong phòng kiểm nghiệm là giấy lọc với một số tính chất sau:
 - Thành phần: giấy được chế tạo từ sợi gỗ đã được tẩy bằng hóa chất hoặc sợi bông.
 - Giấy phải vô trùng, không có mầm mống nấm, vi khuẩn, sâu bệnh hoặc các chất độc hại.
 - Kết cấu: Giấy có kết cấu xốp tự nhiên, dễ tiếp xúc để cho hệ rễ của cây mầm có thể phát triển ở phía trên nhưng không đâm sâu xuống phía dưới.
 - Độ dai: Giấy phải có độ dai để chịu đựng được sự co, kéo khi dùng panh gấp hạt và sự phát triển hệ rễ của cây mầm trong quá trình nảy mầm.
 - Khả năng giữ ẩm: Có khả năng giữ nước để cung cấp cho hạt nảy mầm.
 - Độ pH: Độ pH của giấy biến động từ 6,0 – 7,5.
- Cát:
 - Thành phần: Cát tinh, đồng nhất về kích thước: $> 0,05 \div < 0,8$ mm.
 - Cát phải vô trùng, không lẫn các loại hạt giống, không có mầm mống nấm, vi khuẩn, sâu bệnh hoặc các chất độc hại.
 - Khả năng giữ ẩm: Có khả năng giữ nước để cung cấp cho hạt nảy mầm và cây mầm đồng thời có độ thông thoáng cần thiết cho không khí lưu thông.
 - Độ pH: Độ pH của cát biến động từ 6,0 – 7,5.
- Đất:
 - Thành phần: Đất có cấu tượng tốt, không bị kết vón, không lẫn với các viên to.
 - Đất phải vô trùng, không lẫn các loại hạt giống, không có mầm mống nấm, vi khuẩn, sâu bệnh hoặc các chất độc hại có thể ảnh hưởng đến sự nảy mầm của hạt, sự sinh trưởng của cây mầm hoặc việc đánh giá kết quả nảy mầm.
 - Khả năng giữ ẩm: Khi được điều chỉnh đến giới hạn độ ẩm thích hợp, có khả năng giữ nước để cung cấp cho hạt nảy mầm và cây mầm, đồng thời có độ thông thoáng cần thiết cho không khí lưu thông.
 - Độ pH: Độ pH của đất biến động từ 6,0 – 7,5.

7.2.2. Khay, hộp đựng giá thể: phải vô trùng, không lẫn các hợp chất vô cơ, hữu cơ làm ảnh hưởng đến sự nảy mầm của hạt và có độ pH = 6,0 – 7,5.

7.2.3. Nước:

- Độ tinh sạch: Nước dùng để tưới ẩm cho giá thể phải trong sạch, vô trùng và không hòa lẫn các chất hữu cơ, vô cơ khác.
- Chất lượng nước: dùng nước cất là tốt nhất.
- Độ pH = 6,0-7,5.

7.2.4. Nhiệt độ: Nhiệt độ của môi trường nảy mầm trong khoảng: 20-30°C.

7.2.5. Ánh sáng và độ thoáng khí: Đặt hạt trong điều kiện ánh sáng thay đổi tự nhiên giữa ngày và đêm và có đủ dưỡng khí cho hạt hô hấp.

7.3. Dụng cụ để kiểm nghiệm nảy mầm

- Tủ nảy mầm
- Khay men.
- Hộp petri.